

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

ESTER ZEIDLER DEECHEN
GABRIEL DE SOUZA BAGNARA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ENDOGLUCANASE
OBTIDO POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Thermoascus*
*aurantiacus***

DOURADOS – MS

2025

ESTER ZEIDLER DEECHEN
GABRIEL DE SOUZA BAGNARA

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ENDOGLUCANASE
OBTIDO POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Thermoascus
aurantiacus***

Trabalho de Conclusão de Curso
(TCC) apresentado à Universidade
Federal da Grande Dourados como
requisito para obtenção da
graduação no curso de Bacharelado
em Biotecnologia.

Orientador: Rodrigo Simões Ribeiro
Leite

DOURADOS – MS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

D311p Deechen, Ester Zeidler
PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ENDOGLUCANASE OBTIDO POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Thermoascus aurantiacus* : PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ENDOGLUCANASE OBTIDO POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Thermoascus aurantiacus* [recurso eletrônico] / Ester Zeidler Deechen, Gabriel de Souza Bagnara . – 2025.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite.
TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Fungo termófilo. 2. Cultivo em Estado Sólido. 3. Resíduos agroindustriais. 4. Enzimas industriais. 5. celulasas. I. de Souza Bagnara , Gabriel . II. Leite, Dr. Rodrigo Simões Ribeiro. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

ESTER ZEIDLER DEECHEN
GABRIEL DE SOUZA BAGNARA

Produção e caracterização de endoglucanase obtida por cultivo em estado sólido do fungo *Thermoascus aurantiacus*

Trabalho de conclusão de curso
aprovado pela Banca Examinadora
como requisito parcial para obtenção
do título de bacharel em Biotecnologia,
da Universidade Federal da Grande
Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Simões
Ribeiro Leite

Aprovado em: 27 de novembro de 2025

Banca Examinadora

 Documento assinado digitalmente
RODRIGO SIMÕES RIBEIRO LEITE
Data: 27/11/2025 17:08:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Orientador

 Documento assinado digitalmente
FABIANA GOMES DA SILVA DANTAS
Data: 27/11/2025 17:20:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Fabiana Gomes da Silva Dantas
Examinadora

 Documento assinado digitalmente
MARCELO FOSSA DA PAZ
Data: 27/11/2025 17:14:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Marcelo Fossa da Paz
Examinador

Sumário:

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO GERAL	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4. CONCLUSÃO	17
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

RESUMO

As endoglucanases microbianas apresentam ampla aplicação industrial, especialmente na produção de biocombustíveis, tecidos, sucos e bebidas. O presente trabalho, avaliou a produção e caracterização da endoglucanase obtida por cultivo em estado sólido do fungo termofílico *Thermoascus aurantiacus*, utilizando resíduos agroindustriais como substratos. A maior produção de endoglucanase pelo fungo *T. aurantiacus* foi obtida em 72 horas de cultivo, alcançando cerca de 181,40 U.g⁻¹ de substrato seco. A maior atividade enzimática foi observada em pH 5,5 a 80°C. A enzima manteve-se estável entre os valores de pH 3,0 e 7,0, preservando mais de 95% de sua atividade catalítica. Com relação a estabilidade da enzima a temperatura, mais de 90% da atividade catalítica foi recuperada após 1 hora a 65°C, quando a temperatura foi elevada para 70°C foi recuperado cerca de 80% da atividade inicial. Os resultados obtidos permitem concluir que o fungo termófilo *T.aurantiacus* produz elevadas concentrações de endoglucanase, quando cultivado em meios de baixo valor agregado, e a enzima produzida apresenta elevada estabilidade estrutural, favorecendo a utilização desse biocatalisador e processos industriais.

Palavras-chave: Fungo termófilo, Cultivo em Estado Sólido, Resíduos agroindustriais, Enzimas industriais, celulasas.

ABSTRACT:

Microbial endoglucanases have wide industrial application, especially in the production of biofuels, textiles, juices, and beverages. The present study evaluated the production and characterization of endoglucanase obtained by solid-state cultivation of the thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus*, using agro-industrial residues as substrates. The highest endoglucanase production by *T. aurantiacus* was achieved after 72 hours of cultivation, reaching approximately 181.40 U·g⁻¹ of dry substrate. The highest enzymatic activity was observed at pH 5.5 and 80 °C. The enzyme remained stable between pH 3.0 and 7.0, retaining more than 95% of its catalytic activity. Regarding thermal stability, more than 90% of the catalytic activity was maintained after 1 hour at 65 °C, and when the temperature was increased to 70 °C, approximately 80% of the initial activity was preserved. The results allow us to conclude that the thermophilic fungus *T. aurantiacus* produces high concentrations of endoglucanase when cultivated in low-cost media, and the enzyme exhibits high structural stability, supporting the application of this biocatalyst in industrial processes

Keywords: Thermophilic fungus, Solid-state culture, Agro-industrial waste, Industrial enzymes, Cellulases.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A busca por soluções sustentáveis e renováveis para as crescentes demandas energéticas e ambientais do século XXI tem levado a um interesse significativo no desenvolvimento de tecnologias que permitam a conversão eficiente de biomassa lignocelulósica em biocombustíveis. Nesse aspecto, o uso de biocatalisadores é essencial, pois as enzimas diminuem o gasto energético do processo, por atuarem em temperaturas amenas e gerarem menos subprodutos indesejáveis, por catalisar as reações de forma específica (COSTA et al., 2016).

As matérias-primas lignocelulósicas são recursos encontrados em grande quantidade no meio ambiente, sendo esses materiais constituintes das paredes celulares vegetais, por conta disso, estão presentes em subprodutos agroindustriais e resíduos urbanos. Existe uma grande quantidade de materiais lignocelulósicos que são encontrados como forma de resíduos provenientes do processamento de matéria prima, principalmente quando se trata de materiais da agroindustriais, exemplos: o bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo , farelo de soja e sabugo de milho, entre outros (FLORENCIO et al., 2017).

Esse tipo de material é formado por três frações poliméricas que interagem entre si, sendo interligadas por ligações covalentes, formando uma estrutura complexa que ao mesmo tempo é flexível e resistente a espécies químicas e ataques microbianos. Existe uma variação entre as quantidades de frações poliméricas que compõem os materiais lignocelulósicos de cada espécie, porém, de forma geral, a celulose sempre está em maior quantidade. Ela é um polissacarídeo composto por glicose que se encontram dispostas em cadeias paralelas, de forma a conferir a força e flexibilidade da estrutura. As outras duas frações encontradas em menor quantidade se caracterizam pela lignina e a hemicelulose. A lignina é um polímero aromático heterogêneo formado por ligações éter biologicamente estáveis, cuja função é aumentar a resistência da estrutura a ataques químicos e enzimáticos, enquanto a hemicelulose é formada por xiloses, hexoses, ácidos urônicos e radicais acetila que garantem as ligações covalentes entre a lignina e a celulose (FERREIRA et al., 2016).

Na natureza existem organismos como fungos filamentosos, leveduras e bactérias que são capazes de decompor esses componentes e utilizar glicoses presentes na celulose como fonte de carbono. Esses organismos sintetizam uma série de enzimas capazes de hidrolisar as frações poliméricas. Dentre essas enzimas, existe um complexo enzimático chamado celulase ou enzimas celulolíticas que realizam o processo de sacarificação do polímero celulose. Desde o seu descobrimento no século XX, este complexo enzimático tem tido suas aplicações estudadas e aprimoradas ao longo do tempo (FLORENCIO et al., 2017).

As celulasas são geralmente agrupadas em três categorias principais, divididas pelo seu local de ação no substrato:

As endoglucanases (EnG) (EC 3.2.1.4) são responsáveis por iniciar a hidrólise da celulose. Elas quebram as ligações internas da estrutura amorfa da fibra celulósica de forma aleatória, gerando oligossacarídeos com diferentes graus de polimerização e, conseqüentemente, liberam novos terminais, redutores e não redutores. Essas enzimas desempenham um papel crucial na despolimerização da celulose (DADWAL, 2021).

Enquanto o grupo das exoglucanases (ExG) inclui a celobiohidrolase (CBH) e a glucano-hidrolase (GH). A GH (EC 3.2.1.74) também denominada de 1,4-b-D-glucana-glucano-hidrolase e é responsável por liberar glicose diretamente do polímero celulósico. A CBH (EC 3.2.1.91) 1,4-b-D-glucana-celobio-hidrolase participa da hidrólise primária da fibra celulósica, incluindo a quebra de terminais não redutores e oligossacarídeos em celobiose. Ela também desempenha um papel na amorfogênese, que é um processo que aumenta a taxa de hidrólise da celulose tornando as regiões cristalinas do polímero mais expostas às celulasas. A CBH é dividida em dois tipos: CBH I, que hidrolisa terminais redutores, e CBH II, que hidrolisa terminais não redutores (CASTRO et al., 2010).

Por fim, as β -glicosídeses (BG) (EC 3.2.1.21) β -glicosídeo gluco-hidrolase são responsáveis por hidrolisar celobiose e oligossacarídeos

solúveis em glicose. Elas também podem ser inibidas por seus produtos de hidrólise (HONG et al., 2008).

Quando essas enzimas atuam em conjunto, elas exibem um efeito sinérgico, o que significa que seu desempenho combinado é maior do que a soma de seus desempenhos individuais. Essas interações sinérgicas entre as celulasas são cruciais para a eficiente degradação da celulose em glicose, que pode então ser utilizada como fonte de energia ou matéria-prima para a produção de biocombustíveis e produtos químicos renováveis (BANSAL et al., 2012).

Para viabilizar a aplicação eficaz das celulasas em processos industriais, é crucial determinar suas propriedades, com foco especial nos aspectos cinéticos e físico-químicos. Em geral, as celulasas produzidas por fungos filamentosos demonstram níveis ótimos de atividade em faixas de pH ácidas (entre 3,6 e 5,0), enquanto bactérias podem produzir celulasas altamente ativas em ambientes com pH alcalino. Além disso, a maioria das celulasas exibe temperaturas ótimas de atuação acima de 40 °C. Essas informações são essenciais para a otimização do desempenho dessas enzimas em aplicações industriais (FLORENCIO et al., 2017; LEITE et al., 2007; LEITE et al., 2008; MERHEB-DINI et al., 2009; MARTINS et al., 2012).

Outra propriedade amplamente discutida na literatura referente às enzimas celulolíticas, refere-se a influência de íons metálicos sobre a atividade catalítica, que podem causar efeitos inibitórios ou indutores. Entre os íons analisados, aqueles que mais frequentemente inibem a atividade das celulasas incluem Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+} e Zn^{2+} , podendo, em alguns casos, levar à completa perda da atividade catalítica, mesmo em baixas concentrações (OKONKWO, 2019).

A biomassa vegetal contém lignina e hemicelulose em sua composição, o que dificulta a ação das celulasas devido a isso, os materiais lignocelulolíticos tem de passar por tratamentos químicos para desorganizar esses polímeros e aumentar a eficiência catalítica dos biocatalizadores no processo de sacarificação da celulose (FLORENCIO et al., 2017).

As enzimas celulolíticas passaram a ter um papel fundamental em diversos setores industriais. No setor têxtil, foram utilizadas em processos inovadores, como o biopolimento (que envolve a desfibrilação de tecidos como algodão, linho, lã e viscose) e a bioestonagem (usada para amaciar e desbotar brim). Na indústria de polpa e papel, contribuíram para modificação controlada das propriedades mecânicas da polpa e na remoção de tintas da superfície das fibras a serem recicladas. Além disso, essas enzimas são empregadas para realçar o brilho, remover sujeira e conferir maciez aos tecidos, reduzindo o desgaste das peças de roupa, por minimizar a formação de fiapos e pelotas após várias lavagens (CASTRO et al., 2010; COSTA et al., 2016).

Mais recentemente as aplicações de enzimas do complexo celulolítico se concentram na hidrólise de biomassa para liberação de glicose, sendo esse monossacarídeo utilizado na obtenção de uma imensa gama de produtos, que abrange desde biocombustíveis até polímeros. O etanol de segunda geração (2G), proveniente da fermentação dos açúcares hidrolisados, é um dos produtos de maior interesse atualmente. Ele pode ser produzido pela indústria açucareira utilizando do bagaço de cana-de-açúcar, que não apresenta valor agregado para indústria, possibilitando o aumento da produção de álcool combustível (GARCIA et al., 2015).

A produção de etanol de segunda geração ainda não é viável economicamente por conta do alto custo de produção das enzimas. Porém, ao longo do tempo o custo de produção das enzimas está reduzindo devido às pesquisas que otimizam toda a cadeia de produção dos coquetéis enzimáticos. Essas pesquisas têm como objetivo ampliar a produção das enzimas celulolíticas, abordando diversos aspectos, como a escolha da fonte de carbono adequada, a seleção de microrganismos com alta capacidade de secreção enzimática e a criação de um coquetel enzimático eficaz. Além disso, buscam compreender a composição do coquetel celulolítico liberado por esses microrganismos, bem como a complementação desse coquetel com outras enzimas (FLORENCIO et al., 2017; NUNES et al., 2013).

O cultivo em estado sólido é uma técnica amplamente utilizada para a produção de enzimas, principalmente para fungos filamentosos, como

Thermoascus aurantiacus. Neste processo, o crescimento do fungo ocorre em substratos sólidos, que servem tanto como fonte de nutrientes e como suporte para o desenvolvimento do fungo (GARBIN *et al.*, 2021).

Diferentemente do cultivo submerso, o cultivo em estado sólido oferece uma condição de crescimento mais semelhante ao habitat natural dos fungos filamentosos, favorecendo o seu desenvolvimento e a alta produção enzimática e reduzindo os custos de produção, pois este método tem se destacado pela utilização de resíduos agroindustriais, o que torna o processo econômico e ambientalmente sustentável (LÓPEZ-GARCÍA *et al.*, 2025).

Considerando as exposições anteriores, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a endoglucanase produzida pelo cultivo em estado sólido do fungo *Thermoascus aurantiacus* utilizando resíduos agroindustriais como substrato.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Microrganismos

O fungo *T. aurantiacus* foi mantido no Laboratório de Enzimologia e Processos Fermentativos (LEPFER/UFGD). O microrganismo foi isolado de serapilheira de um fragmento de Mata Atlântica Semidecidual (Mata do Azulão) localizado em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil e identificado pelo laboratório de ecologia fúngica e sistemática do instituto de biomedicina-IB-UNESP-RIO CLARO- SP (COSTA *et al.* 2016).

2.2. Produção de Inóculo

O fungo foi cultivado em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio Ágar Sabouraud Dextrose, mantido por 96 horas a 45 °C. A suspensão do fungo foi obtida pela raspagem suave da superfície do meio de cultura, utilizando 30 mL de uma solução nutriente composta por 0,1% de sulfato de amônio, 0,1% de sulfato de magnésio hepta-hidratado e 0,1% de nitrato de amônia. A inoculação do fungo no substrato (resíduos agroindustriais) foi realizada pela transferência de 5 mL desta suspensão (COSTA *et al.*, 2016).

2.3. Cultivo em Estado Sólido (CES)

O substrato para o cultivo foi composto por uma mistura de farelo de trigo e bagaço de cana-de-açúcar na proporção de 50:50%, respectivamente. Os substratos foram lavados com água destilada e secos a 50 °C por 48 horas. A combinação de substratos (2,5 g de farelo de trigo e 2,5 g de bagaço de cana-de-açúcar) foi colocada em frascos Erlenmeyer de 250 mL e umedecida com 4,5 mL da solução nutriente, mencionada anteriormente, seguida de esterilização em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Após a esterilização, foram adicionados 5 mL da solução inóculo aos resíduos agroindustriais, resultando em 5 mg de massa micelial seca por grama de substrato seco. Os frascos foram mantidos a 28 °C, com umidade inicial 65%, e amostras foram retiradas a cada 24 horas, totalizando 144 horas de cultivo (GARCIA et al., 2018).

2.4. Extração de Enzimas

O extrato enzimático foi obtido pela adição de 50 mL de água destilada aos frascos Erlenmeyer contendo os resíduos miceliados, seguido de maceração com um bastão de vidro. Os frascos foram agitados por 1 hora a 150 rpm. As amostras foram filtradas em tecido sintético (nylon) e centrifugadas a 1500 × g por 10 minutos a 10 °C. O sobrenadante foi utilizado para os ensaios subsequentes (SANGUINE et al., 2022).

2.5. Determinação da Atividade Enzimática

A atividade da endoglucanase (CMCase) foi quantificada utilizando como substrato 3% de carboximetilcelulose (CMC - C5678; Sigma-Aldrich). Os açúcares redutores liberados pela ação enzimática foram quantificados pelo método ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de produto por minuto de reação (GARCIA et al., 2018).

2.6. Efeito do pH e da temperatura na atividade de celulases

O pH ótimo foi determinado por meio da quantificação da atividade enzimática a 50 °C, em diferentes valores de pH (3,0 a 8,0), utilizando tampão McIlvaine (0,1 M). A temperatura ótima foi estabelecida a partir da análise da atividade enzimática em temperaturas de 30 a 70 °C, mantendo o pH ideal previamente determinado. A estabilidade frente ao pH foi avaliada após incubação da enzima por 24 horas a 25 °C, em diferentes valores de pH, utilizando os tampões McIlvaine 0,1 M (pH 3,0–8,0), Tris-HCl 0,1 M (pH 8,0–8,5) e glicina-NaOH 0,1 M (pH 8,5–10,5). A termoestabilidade foi investigada pela incubação da enzima por 1 hora em temperaturas de 30 a 80 °C. As atividades residuais foram mensuradas nas condições ótimas de pH e temperatura estabelecidas anteriormente (COSTA et al., 2016).

2.7. Análise Estatística

O experimento de produção enzimática foi realizado em triplicata, e os resultados apresentados como a média de três ensaios independentes com seu padrão e desvios. As análises estatísticas dos dados incluíram uma ANOVA de uma via, seguido do teste de Tukey com 5% de significância.

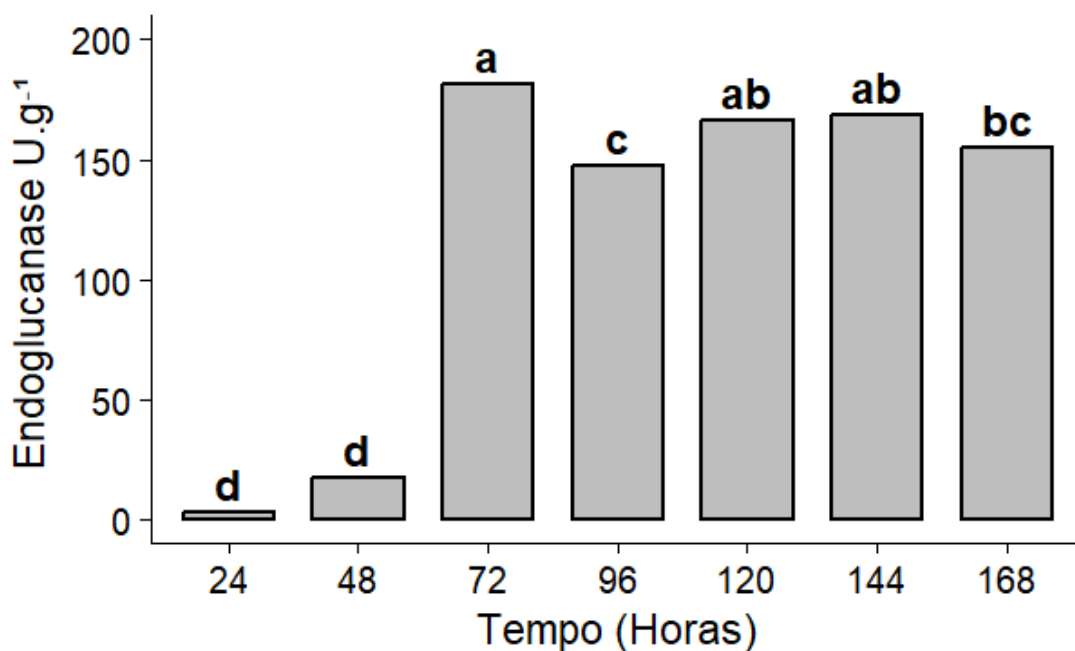
3.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Produção de endoglucanase por cultivo em estado sólido

A maior produção de endoglucanase pelo fungo *T. auratiacus* foi obtida em 72 horas de cultivo, produzindo cerca de 181,40 U.g⁻¹ (Figura 1). A partir desse período observou-se uma queda na produção enzimática. Um dos fatores que pode contribuir para a queda da produção enzimática é a liberação de glicose e celobiose ao longo do crescimento do micélio, que segundo Shibata et al. (2021), esses dois compostos tem atividade inibitória de endoglucanases, variando de acordo com a quantidade de inibidor liberado e o tipo de endoglucanase analisada. Outro fator que explica essa situação é o fato do micélio ser cultivado em um sistema de batelada simples, não ocorrendo a

troca do meio, o que faz que o fungo tenha acesso a menos nutrientes ao longo do cultivo (MARTINS et al., 2012).

Figura 1 - Produção de Endoglucanase pelo fungo *T. aurantiacus* em função do tempo de cultivo em farelo de trigo e bagaço de cana-de-açúcar (50:50%) a 45 °C, contendo 65% de umidade (as barras de erro representam o desvio padrão médio da determinação em triplicata).
arrumar a tabela



*Os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, teste de Tukey ($p < 0,05$)

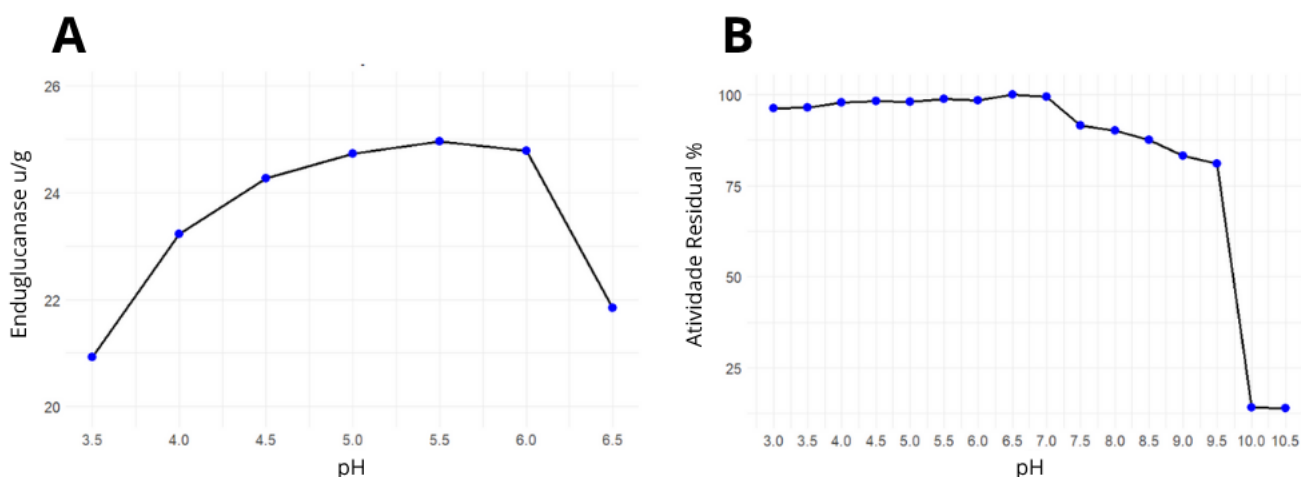
A produção elevada de endoglucanase em curto período de tempo pode ser explicada pelo substrato utilizado. O farelo de trigo se destaca por sua composição nutritiva, sendo rico em proteínas, carboidratos e minerais essenciais, que atuam como fonte de macro e micronutrientes importantes para o crescimento do microrganismo (GARCIA et al. 2015). O bagaço de cana-de-açúcar é constituído principalmente por celulose (44%), hemicelulose (25–27%) e lignina (20–22%), além de conter minerais e cinzas em menor proporção (TEIXEIRA DA SILVA, et al. 2016). Quando utilizados em conjunto, especialmente em proporções bem ajustadas, estes resíduos formam um meio de cultivo equilibrado e nutritivo, capaz de favorecer o crescimento fúngico e estimular a produção de enzimas de interesse biotecnológico.

Huang et al. (2013) obtiveram a produção de 41.46 U.g⁻¹ para endoglucanase com o fungo *Trichoderma viride* utilizando palha de arroz e de milho como substratos, enquanto que Costa et al. (2019) obtiveram com o fungo *T. viride* produção de endoglucanase superior de 301,8 U.g⁻¹ utilizando farelo de trigo como substrato. Teixeira et al. (2016) analisaram a produção da enzima por *Myceliophthora heterothallica* cultivado em estado sólido, a maior atividade enzimática foi observada com a utilização da mistura de bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo na proporção 1:1, alcançando 1.170,6 U.g⁻¹ após 192 horas de fermentação, em comparação, no cultivo submerso, utilizando a mesma proporção de substrato, a produção foi consideravelmente menor, atingindo apenas 63,5 U.g⁻¹ no mesmo tempo de cultivo.

3.2. Efeito do pH e temperatura sobre a atividade da enzima.

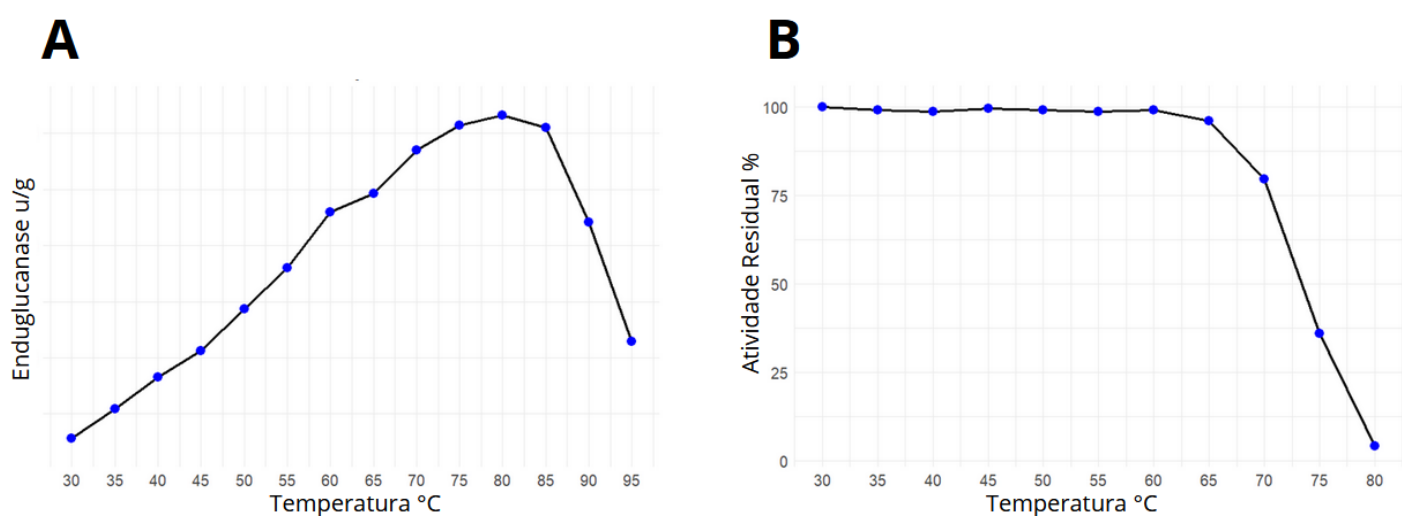
A maior atividade enzimática foi observada em pH 5,5, indicando preferência por ambientes levemente ácidos. A partir desse ponto, observou-se uma leve redução em pH 6,0 e queda mais acentuada em pH 6,5 (figura 2A). Com relação a estabilidade da enzima em diferentes valores de pH (Figura 2B), a enzima se manteve-se altamente estável entre pH 3,0 e 7,0, preservando mais de 95% de sua atividade. Entre pH 7,5 e 9,5, a atividade diminuiu de forma gradual, enquanto em pH ≥10,0 a enzima perdeu praticamente toda sua funcionalidade.

Figura 2: pH ótimo (A) e pH de estabilidade (B)



Conforme observado na Figura 3A, a atividade enzimática aumentou progressivamente entre 30 a 80 °C, alcançando seu pico entre 75 e 80 °C, comportamento típico de enzimas produzidas por microrganismos termofílicos. No entanto, a partir de 85 °C, houve uma queda acentuada na atividade, que se agravou ainda mais à 95 °C, sugerindo perda estrutural da enzima em temperaturas elevadas. As análises de estabilidade térmica da endoglucanase, revelaram que a enzima permanece estável entre 30 a 65 °C, mantendo praticamente 100% de sua atividade. A partir de 70°C, a estabilidade começou a diminuir gradualmente, com perda mais expressiva a partir de 75 °C, e foi completamente inativada a 80°C (Figura 3B).

Figura 3: temperatura ótima (A) e Temperatura de estabilidade (B)



A influência do pH e da temperatura sobre a atividade e estabilidade da endoglucanase é um fator determinante para sua aplicação eficiente em processos industriais (CASCIATORI *et al.*, 2013). A endoglucanase produzidas por fungos termofílicos, apresentam alta atividade em faixas de pH entre 4,5 e 5. Com relação à temperatura, muitas dessas enzimas exibem atividade ótima entre 50 a 80 °C, com destaque para aquelas produzidas por *Thermoascus aurantiacus*, que operam com elevada eficiência térmica em torno de 70 °C, (LEITE *et al.*, 2008) .Essa capacidade de atuar em altas temperaturas está

diretamente relacionada à maior estabilidade estrutural, conferindo às enzimas termoestáveis maior resistência a condições extremas, como variações de pH, presença de solventes ou agentes desnaturantes (DADWAL et al., 2021).

Enzimas com atividade ótima em pH neutro ou levemente ácido, e que mantêm estabilidade em temperaturas elevadas, são particularmente desejadas em processos industriais, como a produção de bioetanol. Essas características favorecem uma maior resistência operacional, menor risco de contaminação e maior produtividade, mesmo em processos contínuos ou mais agressivos. Portanto, a seleção da enzima adequada deve considerar as condições específicas de pH e temperatura do processo, a fim de maximizar o desempenho da enzima e garantir sua estabilidade ao longo do tempo (DADWAL et al., 2021).

4. CONCLUSÃO

Mediante os resultados alcançados no presente trabalho, pode-se concluir que o fungo termófilo *T.aurantiacus*, produz elevadas concentrações de endoglucanase, quando cultivado em meios de baixo valor agregado utilizando farelo de trigo e bagaço de cana de açúcar como substrato. A endoglucanase obtida apresentou elevada estabilidade estrutural, favorecendo a utilização desse biocatalisador e processos industriais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAV, P. et al. Sugarcane bagasse: an important lignocellulosic substrate for production of enzymes and biofuels. **Biomass Conversion and Biorefinery**, [S. l.], v. 14, p. 6111-6142, 2024.

BANSAL, N.; TEWARI, R.; SONI, R.; et al. *Production of cellulases from Aspergillus niger NS-2 in solid state fermentation on agricultural and kitchen waste residues*. **Waste Management**, [S. l.], v. 32, n. 7, p. 1341-1346, 2012.

CASCIATORI, F. P.; CASCIATORI, P. A.; SILVA, R. da; THOMÉO, J. C. Estabilidade ao pH e à temperatura e efeito de íons sobre a atividade de endoglucanase produzida por fungo termofílico em cultivo sólido. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica – **ENBEQ**, 2013, São Paulo. Anais [...]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2013.

CASTRO, Aline Machado de; PEREIRA JR., Nei. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181–188, 2010.

COSTA, Ana Carolina da; SCALABRINI, Rodrigo Prudente; SILVESTRE, Maria Alice; RODRIGUES, André; PAZ, Marcelo Fossa da; FONSECA, Gustavo Graciano; LEITE, Rodrigo Simões Ribeiro. Produção de xilanase por nova linhagem de *Thermoascus aurantiacus*: obtenção de extrato enzimático com reduzida atividade celulolítica para aplicação em indústria de papel e celulose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 32, n. 4, p. 1040–1048, jul./ago. 2016

DADWAL, Anica. *Thermostable cellulose saccharifying microbial enzymes*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1246–1263, 2021

DADWAL, Umesh et al. Multifunctional cellulases in the emerging biofuel industry: A critical review. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.l.], v. 28, p. 52867–52891, 2021.

FARINON, K.; [outros autores]. *Comparative analysis of sterile and non-sterile solid-state bioprocessing using Lichtheimia ramosa for agro-industrial waste valorization*. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. nn, p. [artigo e-page], 2025.

FERREIRA, A. S.; SILVA, R. T.; SOUZA, L. M.; et al. Production and characterization of β -glucosidase from *Gongronella butleri* by solid-state fermentation. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 16, p. 667-675

FLORENCIO, Camila; BADINO, Alberto Colli; FARINAS, Cristiane Sanchez. Desafios relacionados à produção e aplicação das enzimas celulolíticas na hidrólise da biomassa lignocelulósica. **Química Nova**, São Paulo, v. 40, n. 9, p. 1082–1093, 2017.

GARBIN, A. P.; GARCIA, N. F. L.; CAVALHEIRO, G. F.; SILVESTRE, M. A.; RODRIGUES, A.; PAZ, M. F.; FONSECA, G. G.; LEITE, R. S. R. (2021). β -Glucosidase from thermophilic fungus *Thermoascus crustaceus*: production and industrial potential. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 93(1), e20191349.

GARCIA, Nayara Fernanda Lisboa; SANTOS, Flávia Regina da Silva; GONÇALVES, Fabiano Avelino; PAZ, Marcelo Fossa da; FONSECA, Gustavo Graciano; LEITE, Rodrigo Simões Ribeiro. Production of β -glucosidase on solid-state fermentation by *Lichtheimia ramosa* in agroindustrial residues: Characterization and catalytic properties of the enzymatic extract. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, p. 314–319, 2015.

HONG, J.; CHEN, S.; ZHANG, X.; ZHOU, J. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidase from *Aspergillus pullulans* and *Trichoderma reesei*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 3, p. 185–190, 2008.

HUANG, Xiaomei et al. Characterization and optimization of xylanase and endoglucanase production by *Trichoderma viride* HG 623 using response surface methodology (RSM). **African Journal of Microbiology Research**, [S.l.], v. 7, n. 36, p. 4521–4532, 2013.

LEITE, R. S. R., BOCCHINI, D. A. , MARTINS, E. D. S. et al. Produção de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas de *Aureobasidium pulluans* em

fermentação em estado sólido. *Appl Biochem Biotechnol* 137 , 281–288 (2007).

LEITE, R. S. R.; PEREIRA, N.; SOARES, L. M.; et al. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidase from *Aureobasidium pullulans* and *Thermoascus aurantiacus*. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 10, p. 1001-1007, 2008.

LÓPEZ-GARCÍA, Cynthia Lizbeth et al. Design of Solid-State Fermentation Systems for Polymer Hydrolytic Extracellular Enzyme Production by Filamentous Fungi. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 200, p. e68296, jun. 2025.

MARTINS, Eduardo da Silva; LEITE, Rodrigo Simões Ribeiro; SILVA, Roberto da; GOMES, Eleni. Production and characterization of polygalacturonase from thermophilic *Thermoascus aurantiacus* on submerged fermentation. **Annals of Microbiology**, v. 62, p. 1199–1205, 2012.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

NUNES, R. M.; GUARDA, E. A.; SERRA, J. C. V.; MARTINS, Á. A. Resíduos agroindustriais: potencial de produção do etanol de segunda geração no Brasil. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 14, n. 22, p. 113–238, jul./dez. 2013.

OKONKWO, I. F. *Effect of metal ions and enzyme inhibitor on the activity of cellulase enzyme of Aspergillus flavus*. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)**, v. 4, n. 3, p. 727–734, maio/jun. 2019.

PRASERTSAN, Poonsuk; DOELLE, Horst W. Separation and characterization of endoglucanases from culture filtrates of *Cellulomonas* sp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 24, p. 326–333, 1986.

Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms Thermoascus aurantiacus and Aureobasidium pullulans in

agricultural wastes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, p. 391–395, 2008.

SHIBATA, N. et al. Disruption of alpha-tubulin releases carbon catabolite repression and enhances enzyme production in *Trichoderma reesei* even in the presence of glucose. **Biotechnology for Biofuels**, v. 14, n. 39, 2021.

TEIXEIRA DA SILVA, Vanessa de Cássia et al. Effect of pH, temperature, and chemicals on the endoglucanases and β -glucosidases from the thermophilic fungus *Myceliophthora heterothallica* F.2.1.4. obtained by solid-state and submerged cultivation. **Biochemistry Research International**, [S.l.], v. 2016.